

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

令和元年 5月 5日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 日本医科大学・先端医学研究所
職 名 大学院教授
研究代表者名 福原 茂朋

下記のとおり平成30年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:301001)

1. 共同利用研究 課題名	血管新生過程の内皮細胞運動における細胞膜張力の役割の解明			
2. 共同利用研究 目的	光ピンセット技術を駆使して、細胞膜にかかる張力が血管新生における内皮細胞の極性形成と集団運動を制御する分子メカニズムを明らかにする			
3. 共同利用研究 期間	平成30年 4月 1日 ~ 平成31年 3月 31日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 福原 茂朋	日本医科大学 先端医学研 究所 分子細胞構造学分野	大学院 教授	研究全般の総括 実験・解析	
(分担研究者) 弓削 進弥	日本医科大学 先端医学研 究所 病態解析学部門	助教	実験の計画・実施・解析	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル機能制御部門 生体膜機能研究分野	氏 名	辻田 和也

※ 次の6～9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6～9の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:301001)

6. 共同利用研究計画

血管新生は既存の血管から血管枝が出芽・伸長し新たな血管網を構築する現象であり、生体恒常性維持に寄与する生理的血管新生とがんなど種々の疾患に関連する病的血管新生に分類される。血管新生において内皮細胞は互いの接着を維持したまま集団で一方向に移動することで血管を伸長する。我々はこれまで、独自に開発したゼブラフィッシュ成魚を長時間ライブイメージングする技術を用いて、皮膚創傷治癒における血管新生について解析を行い、創傷により傷害を受けた血管が血管新生により修復される際、血流に対して下流に位置する血管が伸長し損傷血管を修復するのに対し、上流に位置する血管はほとんど伸長しないことを発見した。さらに、そのメカニズムについて解析を行い、上流損傷血管では内腔圧が高く、この内腔圧が損傷血管の先端部を拡張させ、それにより内皮細胞膜に張力を負荷することで、血管伸長を抑えている可能性を示した。本共同利用研究では、“内腔圧による血管新生の制御機構”の分子メカニズムの解明を目指し、細胞膜にかかる張力が血管新生における内皮細胞の極性形成と集団運動を制御する分子機構について、バイオシグナル総合研究センター内受入研究者である辻田和也博士がご専門としている BAR ドメイン蛋白質に着目し解析を行った。以下、研究計画を示す。

- ・ アクチンを可視化する Lifeact-mCherry、細胞極性を可視化する Golgi-mVenus、BAR ドメイン蛋白質、アクチン重合促進因子 Arp2/3 複合体と蛍光蛋白質の融合蛋白質を発現する HUVEC の作製 (BAR ドメイン蛋白質を発現する遺伝子は、辻田和也博士より分与していただく)
- ・ 微小流体デバイスを用いた血管新生実験により、血管新生過程の内皮細胞における上記融合蛋白質の局在と内腔圧負荷によるこれら蛋白質の局在変化の解析
- ・ 上記融合蛋白質を内皮細胞で発現するトランスジェニックゼブラフィッシュの樹立と創傷治癒に伴う血管新生のライブイメージング解析

7. 共同利用研究の成果

微小流体デバイスを用いた血管新生実験により、伸長する血管を構成する内皮細胞は、前後軸極性を形成し、先端端でアクチン重合を誘導することで前進するが、内腔圧負荷により前後軸極性形成、先端端におけるアクチン重合、血管伸長が抑制されることが示された。また、アクチン重合促進因子 Arp2/3 複合体の局在を調べたところ、コントロールでは、内皮細胞の先端端のアクチン重合部位に Arp2/3 が局在していたのに対し、内腔圧負荷によってその局在が消失した。また、Arp2/3 複合体の阻害剤処理により、先端端におけるアクチン重合が抑制され、血管伸長が停止した。同様に、成魚皮膚の創傷治癒過程の血管新生を解析したところ、下流損傷血管の内皮細胞は、前後軸極性を獲得し、先端端でアクチン重合を活発に誘導することで前進していたのに対し、上流血管の内皮細胞では、先端端におけるアクチン重合が抑制され、前後軸極性が消失していた。また、Arp2/3 複合体の阻害剤により、血管新生過程の内皮細胞の先端端におけるアクチン重合が阻害され、血管伸長が停止した。以上の結果から、血管新生過程の内皮細胞は、前後軸極性を形成し、先端端で Arp2/3 依存的にアクチン重合を惹起することで前進するのに対し、内腔圧による内皮細胞への伸展刺激は、先端端における Arp2/3 複合体の局在化とアクチン重合、さらには前後軸極性形成を抑え、それにより内皮細胞遊走と血管伸長を阻害していることが示された。

辻田博士らは、FBP17 ファミリーBAR ドメイン蛋白質が細胞膜張力のセンサーとして機能し、膜張力の低い先端端に局在し、Arp2/3 依存的にアクチン重合を惹起することを報告している。内皮細胞に発現する FBP17 ファミリー蛋白質を検索したところ、CIP4 が過剰に発現していること、また、微小流体デバイスを用いた血管新生実験により、CIP4 は内皮細胞の先端端に局在していたが、内腔圧負荷によりその局在が消失することが分かった。これらの結果から、CIP4 が内皮細胞における内腔圧センサーとして機能しており、内腔圧は先端端における CIP4 の局在を阻害することで血管伸長を抑えていることが示唆された。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

該当事項なし

(現在、本研究成果に関する論文を作成中)

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

公益財団法人ノバルティス科学振興財団、第 32 回 ノバルティス研究奨励金 (平成 30 年度)

研究課題名「血管内腔圧による血管新生の新たな制御機構の解明」

研究代表者: 福原 茂樹